

以掃描型分光光度計定量水中腐植酸可行性研究

謝淑婷、唐正芬、王根樹

摘要

腐植酸是自然水體中天然有機物的主要成份，在飲水衛生中，其具有形成消毒副產品前質的重要角色。本研究的目的是利用分光光度計的原理，根據不同濃度的腐植酸在特定波長下應表現出不一樣的吸光度(Beer's law)，朝此方向做探討，嘗試建立一套簡單、有效率、更具可信度以測定水中腐植酸濃度的方法。

本研究以濃度 1 ~ 20 mg/L 的腐植酸測定其在波長 200 ~ 600nm 間的吸光度，結果顯示使用波長越低，腐植酸吸光度越高，且其濃度在測試範圍內與吸光度下積分面積成正比。為確定本方法可能之干擾，另配置含濁度 0、2、4、6 NTU 之福馬林及濃度 1、2、3、4、5 mg/L 之高嶺土之腐植酸溶液。實驗結果顯示在固定腐植酸濃度下，含濁度水樣在過濾前、後的吸光度在波長 220 ~ 440nm 較不受濁度影響，且水中福馬林及高嶺土濁度對本方法之干擾並不相同。

本研究結果顯示：含腐植酸水樣在經適當過濾後在特定範圍波長 ($\lambda = 250 \sim 350\text{nm}$) 下其濃度與吸光度曲線下面積有正比關係且較不受水中濁度影響，適合各水廠作為簡單之水中背景有機物定量方法。

前言

腐植酸是一種分子量介於 2000 ~ 10000 間的大分子有機物質，分子大小約介於 9.0 ~ 12.3Å 之間，在 pH 小於 2 時不溶於水。目前已經知道其內含有 carboxylic、methoxyl、hydroxyl、phenolic 等官能基，但科學界對其確實的分子結構還沒有定論。一般所言的腐植質乃是包含腐植酸及磺酸，後者的分子量較小，約 800 ~ 2000，大小約 5.5 ~ 9.2Å (由於包含較多的 carboxylic、hydroxyl 等官能基所致)，水中溶解度亦較大，在任何 pH 值均溶於水。

國立台灣大學公共衛生學系

由於在自來水處理的消毒過程中，氯會和腐植酸中的多種官能基

進行反應，而產生致癌的消毒副產品(DBP)，但一般的自來水處理過程，如混凝、過濾、軟化只能去除平均約 30 — 50 % 的高分子腐植質，不可能完全去除水中之腐植酸。因而測定水中腐植酸濃度是了解腐植酸對 DBP 生成的影響不可或缺的一個環節。目前常用以代表水中腐植酸濃度的方法有：(1)使用 TOC 分析儀測定水中總有機碳，並以此代表出水中腐植酸的濃度。(2)以 UV 掃描腐植酸水樣在波長 254nm 時的吸光度，以代表水中腐植酸濃度。但以方法(1)而言，水中所包含的有機物包羅萬象，且隨地點、季節、地形...的不同在比例上各有不同；單以 TOC 來做腐植酸的估計，存有很大的不確定性。加以 TOC 之分析需要昂貴的 TOC 分析設備，且每樣本之分析常需 8-15 分鐘之分析時間，在實驗室中常為一耗費時間及成本之分析方法。另一方面，若是以 UV — 254 來做單一波長的掃描，也有不可解的盲點。目前環科界雖然認同含 DBP 前質之腐植酸在 UV — 254 時有波峰出現，可是尚未找出確實的理論根據，並有人認為 UV — 260 亦具有相同功效。第二，只做單一波長的掃描誤差會很大，並有隨著樣本濃度越大，誤差越大的情形。所以有必要尋求另一測定腐植酸更有效率的方法。

自然界的光線照射到地球上對地球上的物質會造成物理上或化學上的影響。可見光的光譜吸收波長大約在 400nm ~ 700nm 左右，根據 HPSEC(High-performance size-exclusion chromatography)作出的研究顯示水體中高分子量物質幾經照射會出現減少的情形，取而代之的是小分子量物質的生成，這種生成物有酸性的特性存在。小分子量的物質會被水體中的微生物所分解，在分析自然界水體的光譜特性時亦發現其光譜和太陽光的光譜特性有直接關聯。

由比爾定律(Beer's Law)：

$$A = \epsilon bc$$

A=吸光度(absorbance)

ϵ = 莫耳吸光係數(molar absorptivity)

b=光束行徑長度(公分)

c=溶液濃度(M)

當單色光通過含吸收物種的樣品時，光束的輻射功率減少，因能量被該物種粒子所吸收。其功率的減少視吸收劑濃度和光束行徑長度而定，而可據以測定水中該物質之濃度。Beer's Law 也可運用在含有多種不互起作用吸光物質的溶液中，即在某一波長下的溶液總吸光度等於其中各個成份吸光度之總和：

$$A = A' + A'' + A''' + \dots$$

$$\text{或 } \epsilon bc = \epsilon' bc' + \epsilon'' bc'' + \epsilon''' bc''' + \dots$$

綜合水體物質的光譜特性及 Beer's Law，水體在各波長之吸光度應可代表某種(或某些)有機物之濃度，而各吸光度之總和則可代表水體中各有機成份之總濃度。據此，我們可以假設在某一波長範圍應可以找到一段適當範圍的波長，其曲線下吸光度積分面積可以代表樣本中各物質濃度的大小。

實驗方法

本實驗使用土壤中萃取之腐植酸(Nacalai Tesque, Japan)配置 1 ~ 20mg/L 之腐植酸溶液，以掃描型 UV - Vis 分光光度計(Shimadzu UV160A)分析樣品在不同波長下之吸光度。所掃描之波長範圍介於 200 ~ 800nm 之間，由於各樣品之分析結果顯示在 600nm 以上波長時，水溶液吸光度非常小，故後期實驗之波長範圍定於 200 ~ 600nm 之間。

為評估水中濁度對水樣吸光度之影響，本研究另以 Formazin 及 Kaoline 配置含不同濁度之水溶液，以探討在不同腐植酸濃度下濁度之影響。

結果與討論

1、 定量分析試驗

就不同濃度之腐植酸而言，過濾前、後水樣分別以波長 200 ~ 600nm 之波長範圍掃描所得光譜示如圖一。水樣的吸光度在波長大於 400nm 時皆趨近於零，隨著波長降至 200nm 吸光度有明顯上升趨勢，其中，過濾前的一組的吸光度較同濃度的過濾後的一組要大。值得注意的是，波長在 200 ~ 220nm 之間這個現象卻被顛覆，過濾後的一組吸光度竟比過濾前的吸光度要大，此顯示水中濁度對水樣吸光度有極大影響。

不同濃度之腐植酸水溶液經 UV - Vis 分光光度計掃描後，所得之吸光度光譜顯示於圖二。圖二可明顯看出在適當波長範圍內，待測物品的濃度與吸光度有正變的關係。進一步將數據做分析，以水樣的濃度為橫軸，吸光度曲線下面積為縱軸作圖，可得圖三之結果。雖然在不同之波長範圍下會有不同之面積，但其線性關係並未改變。所需注意者，吸光度在波長小於 250nm 時急速上升，此部份之吸光度將對量測結果有重要影響。若樣品中含有某些特定組成之物質，在

200~220nm 範圍內會吸收光線，則將對此法產生嚴重干擾。由圖三中明顯看出腐植酸的濃度與其吸光度下積分面積成正比，顯示積分吸光度曲線下面積應可用以代表水中腐植酸之濃度。由圖一、二可知，若欲以此法檢測待測物濃度時，只需以過濾後標準品作出一條檢量線，再將待測物以相同步驟測得其光譜，算出吸光度下積分面積，再對照檢量線的結果，便可得到待測物的濃度。

若是以圖二中濃度為 1mg/L 的腐植酸吸光度光譜作基線，其它濃度的腐植酸在各對應波長相對吸光度大小可以圖四表示之。由圖四可以明顯看出若只作單一波長的檢測時(如波長 254nm 的測量)，正負誤差都將出現，尤其濃度愈大的，其吸光度產生誤差之機率和誤差大小也愈大。此圖顯示以單一波長之吸光度為量測水中腐植酸之參數時，將可能產生較大之隨機誤差，對照圖三及圖四之結果，可清楚看出使用某範圍之波長掃描並使用曲線下之面積代表腐植酸之濃度，將可有效避免由單一波長分析可能導致之誤差。

2、可能之干擾：

由於水中濁度之存在極可能干擾本方法之分析結果，本研究以 Formazine 及 Kaoline 兩種標準品配置濁度，以探討其可能之影響。

由添加非顆粒性濁度 Formazine 所配製之腐植酸溶液，經 UV-Vis 掃描後所得之結果顯示如圖五。調配出的含濁度腐植酸溶液之濁度分別為 0.34、2.56、4.57、6.56NTU。過濾前的一組溶液在波長在 230 ~ 400nm 間吸光度隨著波長之減小呈緩慢上升之現象，濁度愈大吸光度隨之增大；如同圖一所示，在 200 ~ 230nm 間則呈急劇上升。過濾後的一組波長在 230 ~ 400nm 吸光度亦緩慢上升，但由於水樣已經過濾，各水樣之吸光度並無顯著差異。在波長 200 ~ 230nm 吸光度也出現急劇上升的情形，不同的是，相較於過濾前的一組，過濾後的一組吸光度在濁度 0.34、2.56、4.57NTU 時的吸光度相對較高，與前述實驗(圖一)結果相呼應。同時水樣在經過過濾後，其吸光度在波長 200~230nm 之間仍有明顯差異，顯示以 0.45 μ m 之濾膜過濾並不能有效去除由 Formazine 濁度產生之干擾。

圖六則為配製 0.5 — 5mg/L Kaoline 土對腐植酸吸光度之效應。由於使用之 Kaoline(Nacalai Tesque, Japan)仍屬微小顆粒，在各種腐植酸濃度下對吸光度並無效應。此部份之結果與圖一所示完全不同，顯然圖一及圖六均係表示水中懸浮微粒之影響，但二者之組成並不相同。圖一之懸浮微粒係未溶解之腐植酸，其顆粒較大且屬有機組

成;而圖六之濁度則來自微細顆粒狀之無機 Kaoline，二者對水中腐植酸之吸光度效應自然不同。

根據以腐植酸、福馬林(非顆粒性濁度)、高嶺土(微細顆粒性濁度)為對象結果顯示，波長低於 220nm 以下時，吸光度受過濾之影響極為明顯(可參考圖一、圖五)，水中之膠體物質(如 Formazine)之存在會增加腐植酸之吸光度，使得腐植酸之濃度被高估，此部份之干擾雖可以過濾方法除去，但過濾並不能有效減少在低波長範圍之誤差。另一可能之干擾為水中具高吸收光度之非腐植酸成份之存在，例如 H_2O_2 。由於 H_2O_2 類之分子極高之吸光性，即使極微小之濃度($<< 1\%$)亦將對腐植酸之測定產生重大干擾，此類分子之存在亦將干擾分析之結果。圖七顯示 5mg/L 腐植酸溶液之吸光度受 H_2O_2 干擾之結果：水中 0.03% 之 H_2O_2 已嚴重干擾腐植酸之吸光度光譜，當水中 H_2O_2 之濃度增至 0.06% 時，所測得之 UV - Vis 光譜已完全被 H_2O_2 控制。且 H_2O_2 對 UV - Vis 光譜之干擾即使在高波長範圍(400nm)時仍有效應。

根據以上之結果，本法所得之腐植酸溶液吸光度在低波長($< 220nm$)時較易受到干擾，且此種干擾常無法以一般過濾方法去除(過濾為水質分析最常用之前處理方法)，加以在高波長時($> 400nm$)所得之吸光度值均極低，因而建議採用 250 - 350nm 之波長範圍之吸光度作為標準。在此波長範圍內，水樣經過濾後所受之干擾最低，(如圖三)。然而當水中含 H_2O_2 等高吸光度物質時本法將不適用，必須以傳統 TOC 分析法測定水中之背景有機物。

由於水中腐植酸成份複雜，加以腐植酸之組成受地域影響極大，不同地理位置之腐植酸成份可能產生不同之吸光度曲線，因而不同水源所得之水樣無法直接做比較，仍需借助其他方法如 TOC，IR 之分析，方可有效對水中腐植酸作一定性定量分析及比較。本方法另一主要問題在於標準曲線之獲得，由於水中腐植酸之定量必須根據由標準溶液所得之吸光度曲線下面積訂定，因而此標準溶液所用之腐植酸來源將對本法所得之結果有重大之影響。目前已商品化之腐質酸種類繁多，如何選得一適當之標準品將是水廠一重要課題。

儘管有以上之限制，本法仍提供各水廠一有效之定量水中腐植酸之方法。主因在本法僅需購一掃瞄型 UV - Vis 光度計(市價僅一般 TOC 分析儀之 1/3 ~ 1/4)，且方法簡便，不需使用任何化學藥品，且儀器操作簡單。最重要者，本法系定量水中腐植酸總量，並非如一般

儀器操作簡單。最重要者，本法系定量水中腐植酸總量，並非如一般 TOC 僅定量水中有機碳成分。從此角度而言，此方法仍提供一迅速，有效之水中腐植酸定量方法，對各水廠之操作當有所助益。

結論

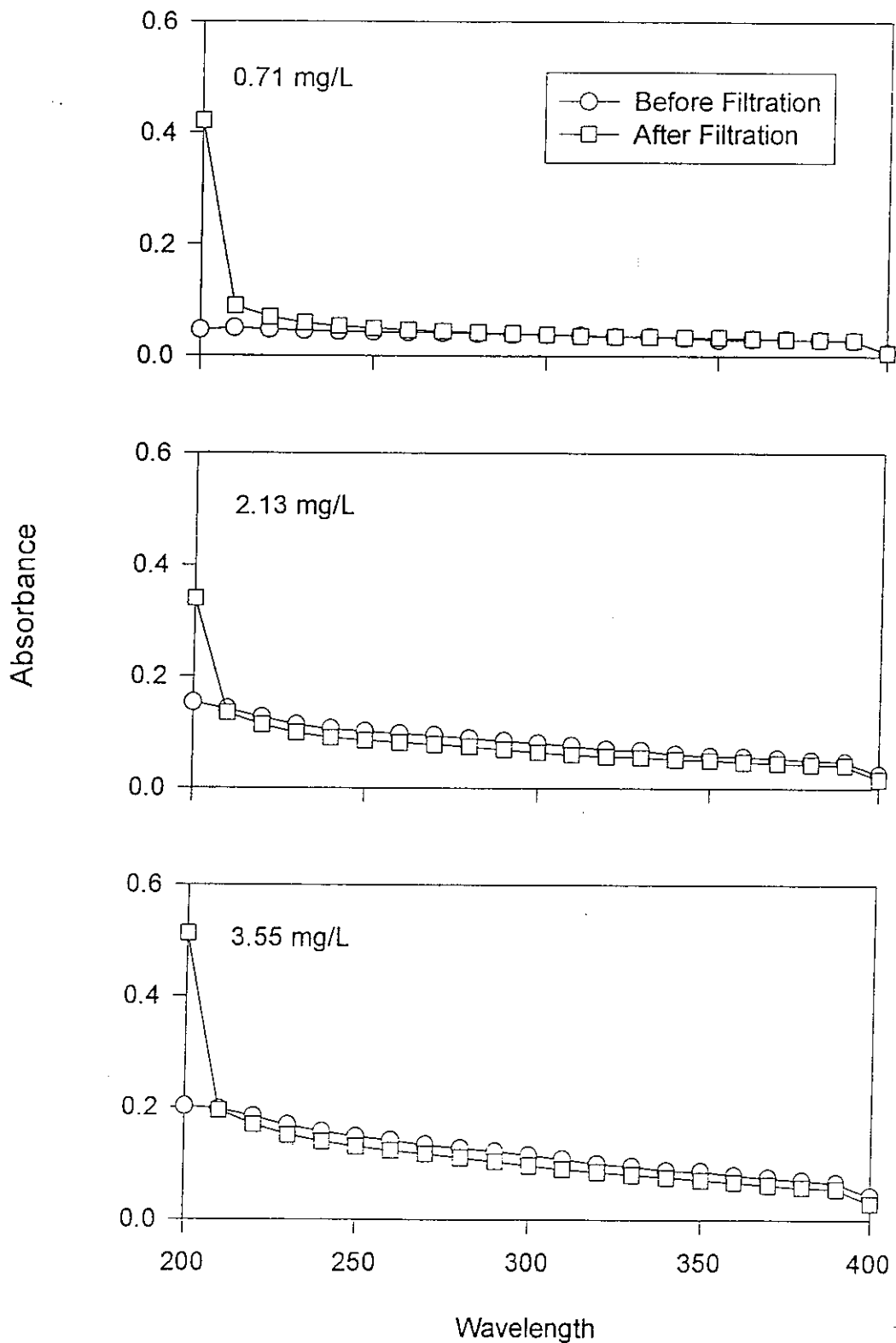
本方法仍提供一迅速、有效之定量水中腐植酸之方式，可定量水中腐植酸之總濃度。對特定水廠而言，在水樣過濾後，使用本方法可設立一長期之水中腐植酸監測資料，配合傳統 TOC 分析方法，當可有效提供水中腐植酸之資訊。

致謝

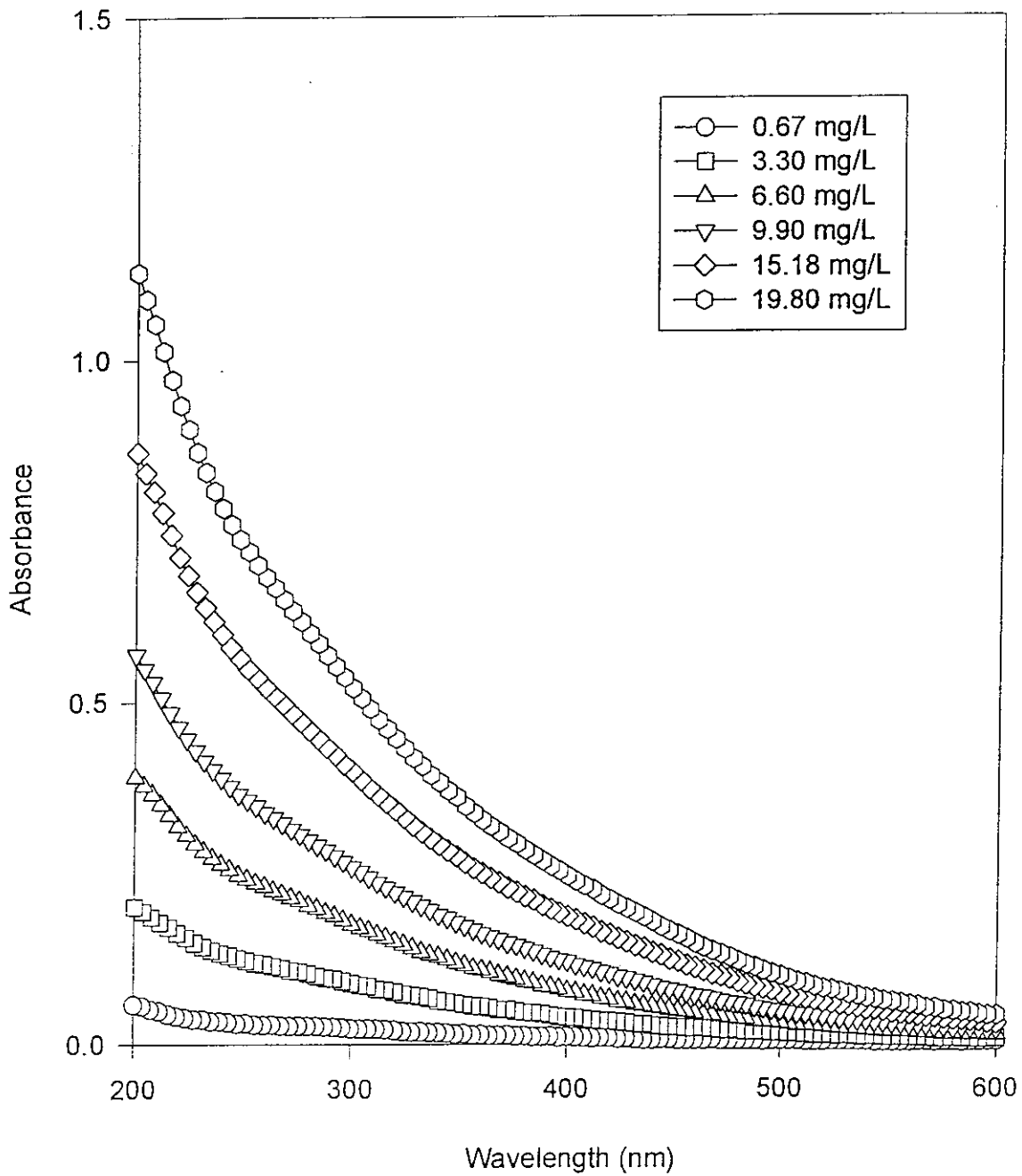
本計劃部份承國科會補助 (NSC85-2211-E-002-03) 特此致謝。

參考資料

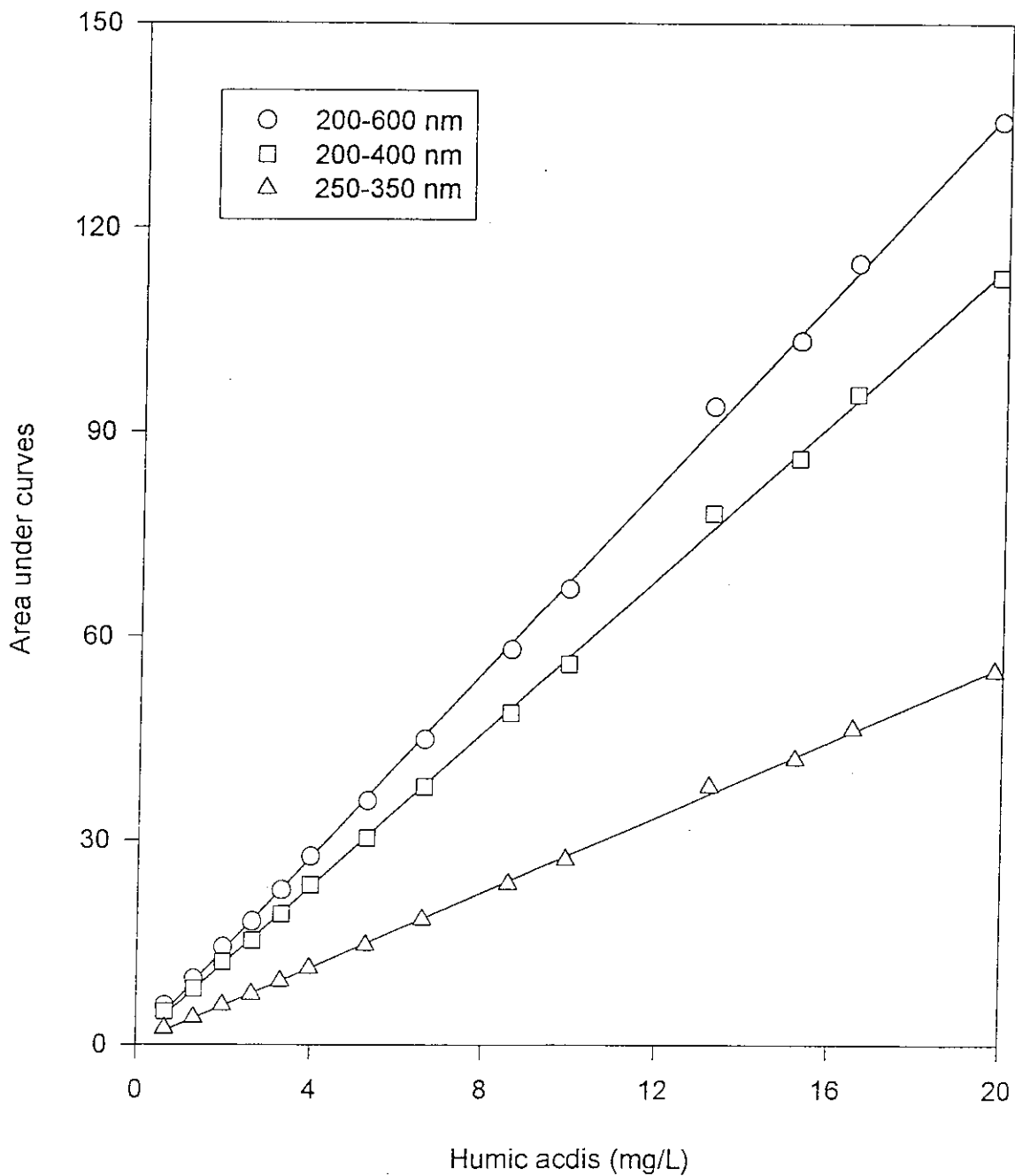
- 1、 Issam N. Najm, Nancy L. Patania, Joseph G. Jacangelo, and Stuart W. Krasner, 1994, "Evaluating Surrogates for Disinfection By-products", J.AWWA, 86(6)98-106.
- 2、 Douglas A. Skoog; Principles of Instrumental Analysis.
- 3、 Suffet I. H. and Carthy P.M., (1989), Aquatic Humic Substance: Influence on Fate and Treatment of Pollutants, American Chemical Society, Washing, D.C.



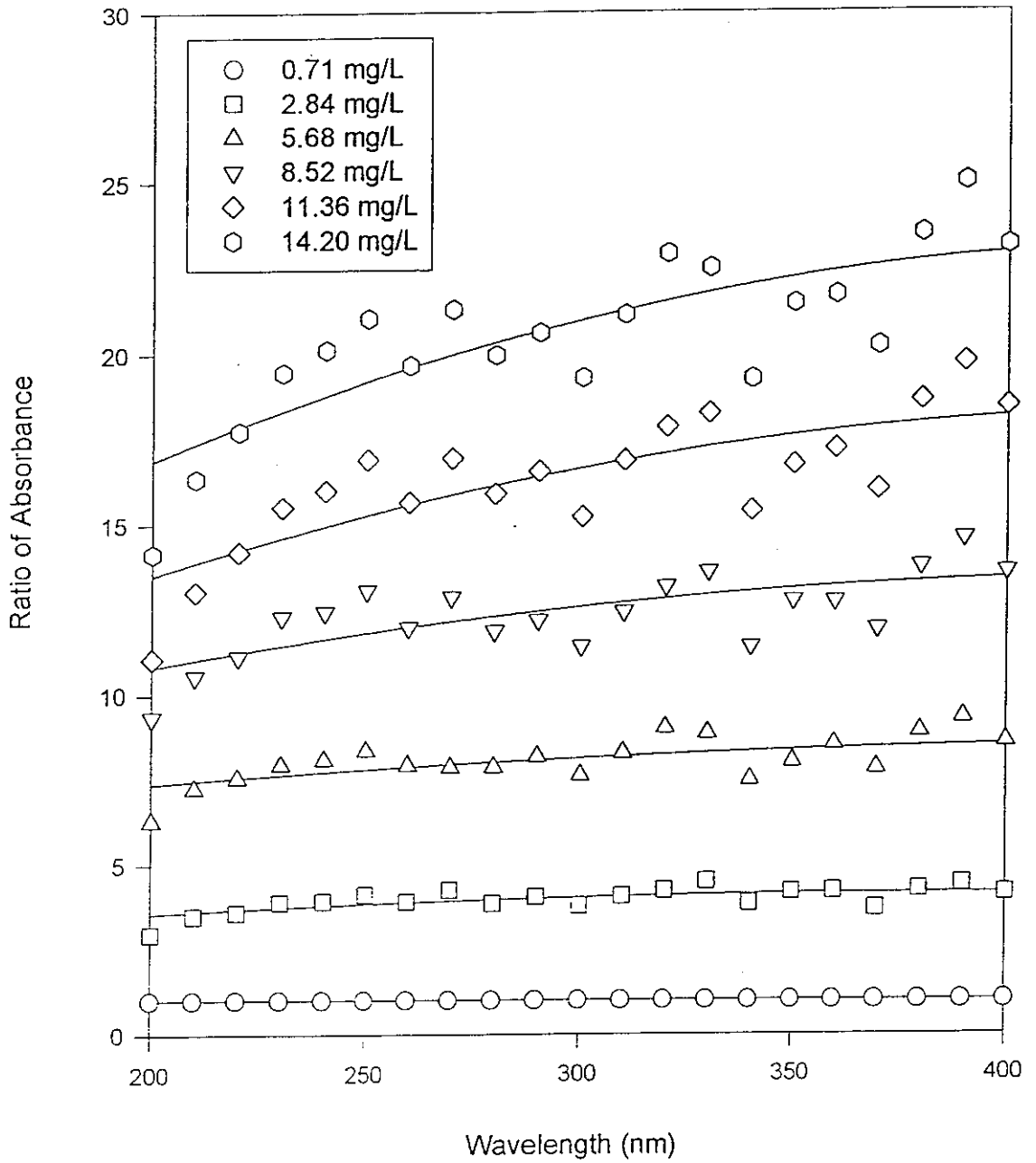
圖一 水溶液中未溶解之腐質酸顆粒對吸光度之影響



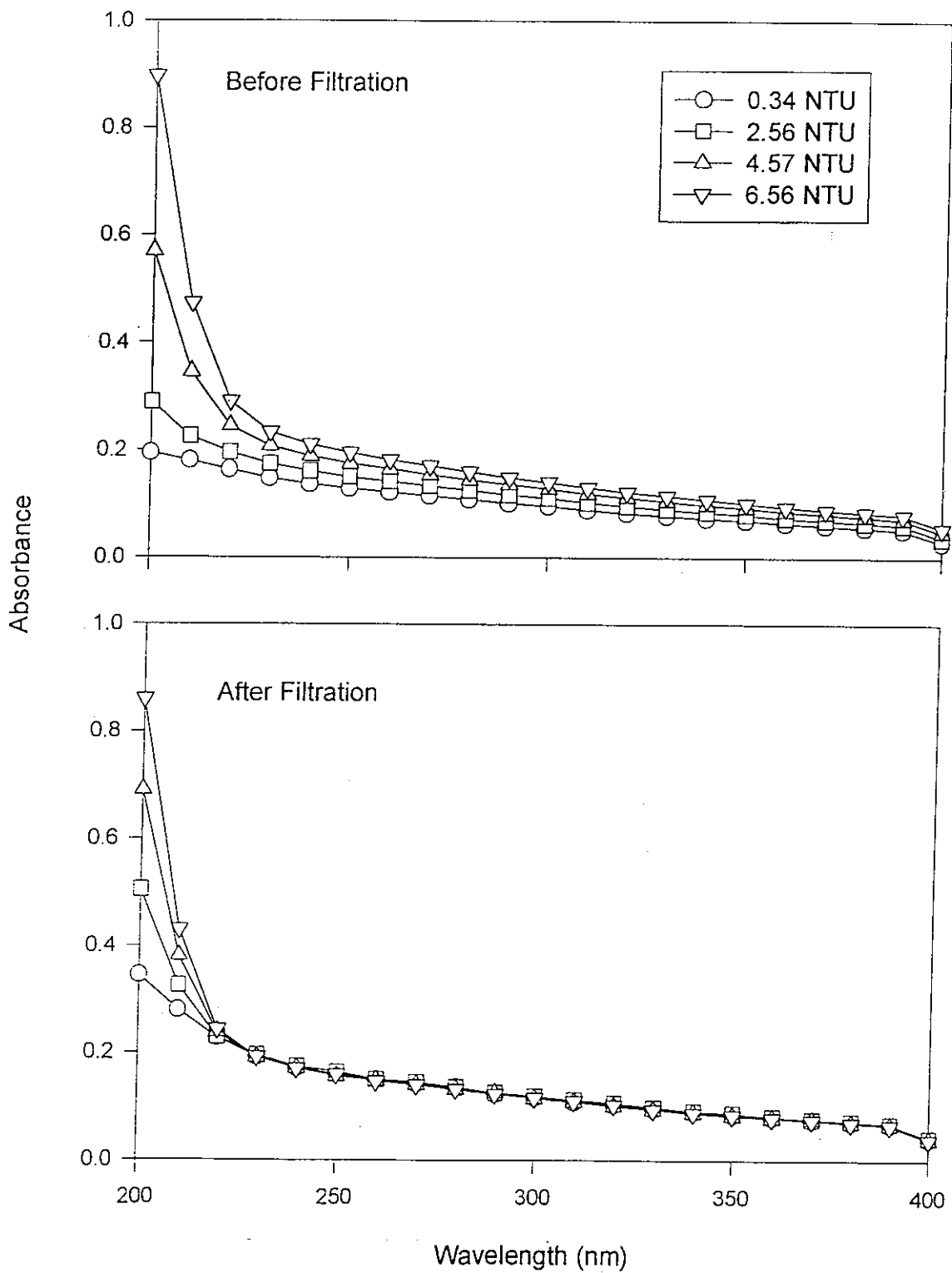
圖二 不同濃度腐植酸水溶液之UV - Vis 吸光度圖譜



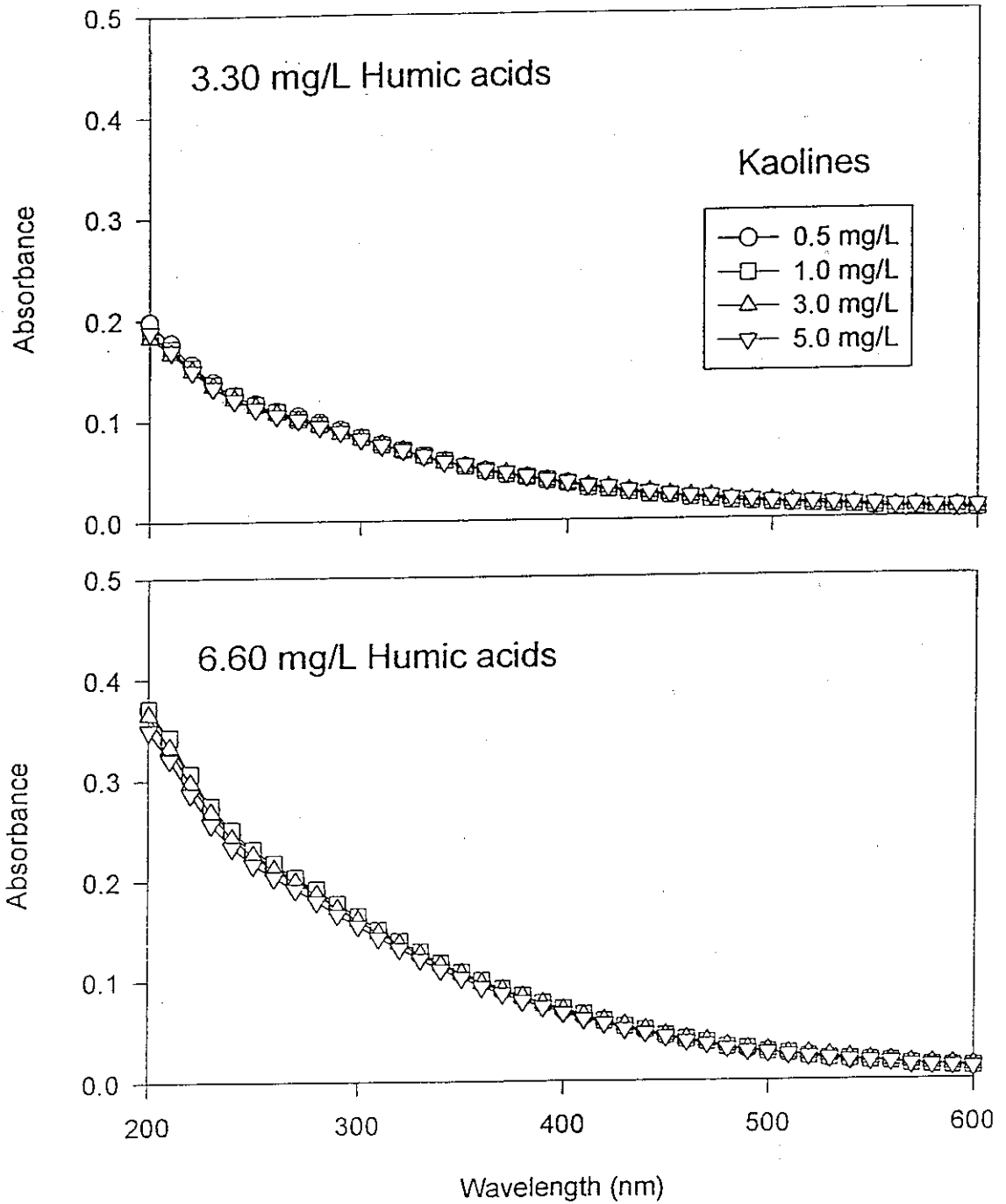
圖三 不同濃度腐植酸水溶液經掃瞄型分光光度計分析後其掃瞄曲線下面積與濃度之關係圖



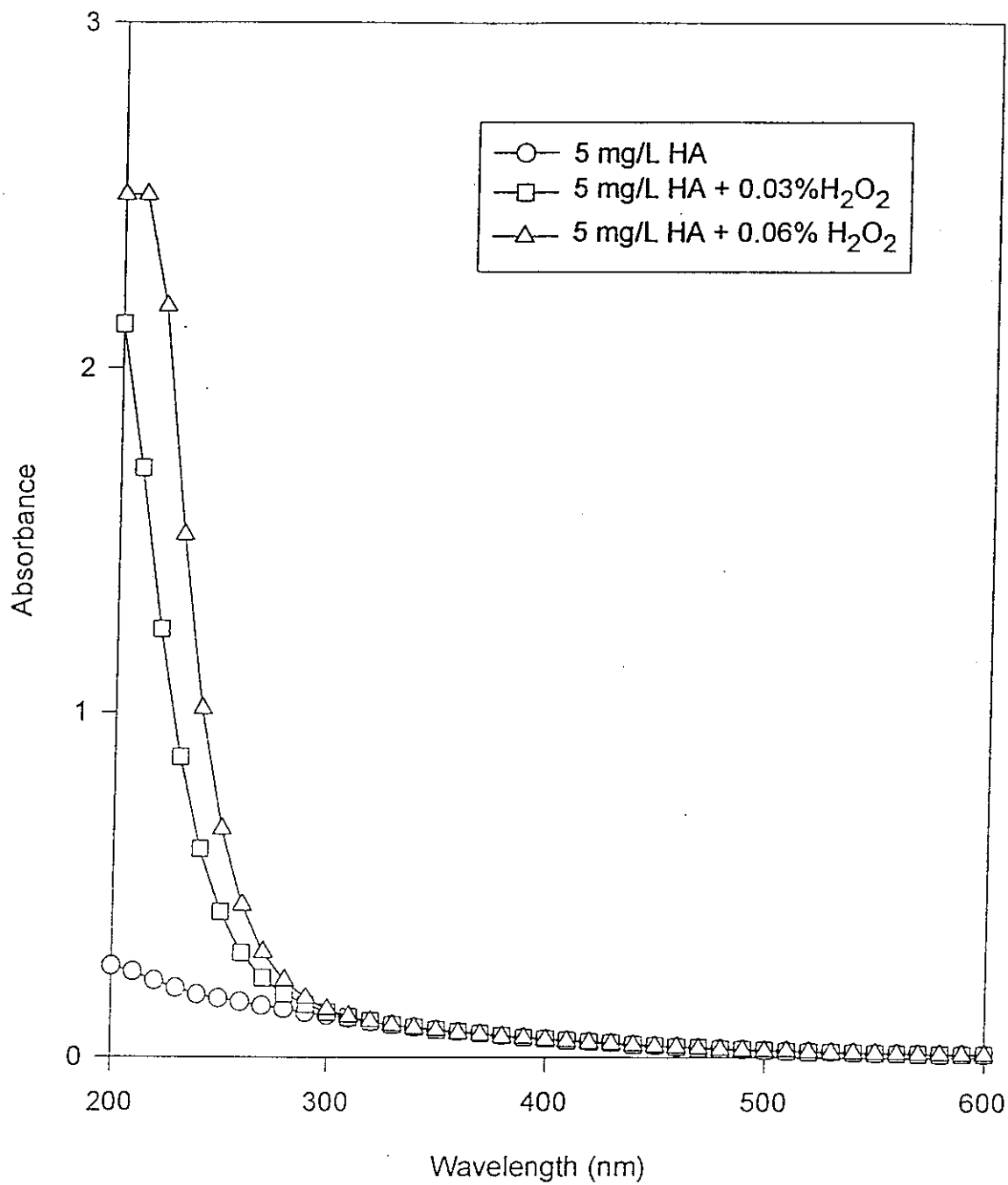
圖四 以 1mg/L 腐植酸溶液為基準，其他濃度腐植酸在各波長之相對吸光度



圖五 由 Formazine 配製之濁度對腐植酸水溶液 (3.5mg/L Humic Acids) 吸光度之影響



圖六 由 Kaolines 配製之濁度對腐植酸水溶液吸光度之影響



圖七 水溶液中微量 H₂O₂ 對腐植酸吸光度之效應